

DETERMINATION OF AMOUNT OF ALLERGEN IN ROOM DUST

Publication number: JP3259096

Publication date: 1991-11-19

Inventor: ANDO TORU; KIMURA HIROMI; HONMA REIKO;
MAEDA HIDENORI; YAMAKAWA HIROSHI

Applicant: TORII YAKUHIN KK

Classification:

- international: **G01N33/48; C12Q1/06; C12Q1/37; G01N33/48;
C12Q1/06; C12Q1/37; (IPC1-7): C12Q1/06; C12Q1/37;
G01N33/48**

- European:

Application number: JP19900058320 19900309

Priority number(s): JP19900058320 19900309

Report a data error here

Abstract of JP3259096

PURPOSE:To easily and quickly determine the amount of allergen by using a proteinase activity as an index. **CONSTITUTION:**About 1g of room dust containing proteinase is extracted with about 20ml of a phosphoric acid buffer solution to obtain an extract. The extracted liquid is added with tert.-butoxycarbonyl-L-phenylalanyl-seryl-L- arginine-4-methyl-coumaryl-7-amide (Boc-phe-ser-arg-MCA) and hydrolyzed at about 37 deg.C for about 30min to effect the color development. The proteinase activity is determined by measuring the fluorescent intensity of the color- developed liquid at an excitation wavelength of about 380nm and a determination wavelength of about 460nm. The amount of allergen in room dust can be obtained by using the determination result as an index.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑫ 公開特許公報(A)

平3-259096

⑤Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬公開 平成3年(1991)11月19日

C 12 Q 1/06

6807-4B

1/37

6807-4B

G 01 N 33/48

N

7055-2J

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全3頁)

⑭発明の名称 室内塵中のアレルゲン量の測定方法

⑯特 願 平2-58320

⑰出 願 平2(1990)3月9日

⑱発 明 者 安 藤 徹 千葉県船橋市東中山1-13-23 グランジュール中山102号

⑱発 明 者 木 村 洋 美 千葉県流山市平方250-95

⑱発 明 者 本 間 玲 子 千葉県千葉市園生町242-7

⑱発 明 者 前 田 英 則 千葉県千葉市みつわ台3-13-6-201

⑱発 明 者 山 川 洋 志 千葉県浦安市入船2-16-101

⑲出 願 人 鳥居薬品株式会社 東京都中央区日本橋本町3丁目4番1号

⑳代 理 人 弁理士 浅 村 皓 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

室内塵中のアレルゲン量の測定方法

2. 特許請求の範囲

- (1) 室内塵中のアレルゲン量を蛋白分解酵素活性を指標として測定する方法。
- (2) 室内塵中の蛋白分解酵素により合成基質を加水分解させ、発色した色の強度または蛍光強度を肉眼的または機器的測定することより成る特許請求の範囲第1項の方法。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

アレルギー性喘息やアレルギー性鼻炎の主たる原因物質は室内塵であり、とくにその中に生息するダニ(Dermatophagoides farinae や Dermatophagoides pteronyssinus)である事は広く知られている。本発明は、室内塵中の蛋白分解酵素活性を測定する事により室内塵のアレルゲン性の強さ及び室内塵中のダニの量を測定し、室内の汚染状況を知り、環境整備の指標として役立つ

ものである。

〔従来の技術〕

従来、室内塵中のダニの量はダニを物理的手段により室内塵より分離し、光学顕微鏡を用いて数を数える方法、化学薬品を用い室内塵を処理し、蛋白質と反応させる方法(特開昭60-135844)やダニ特異抗体を用いた免疫学的検出法(特開昭63-191961)が知られている。しかし、これらは非常に複雑であったり、特異性に欠けていたり、あるいは特異性が良くても非常に高価でしかも測定方法が複雑である。

本発明は家屋塵中の主アレルゲンの量を簡便で特異性高く測定する方法である。

〔課題を解決するための手段〕

家屋塵のアレルゲンがダニに由来すること、またダニのアレルゲン成分には蛋白分解酵素活性が在ることに着目し、蛋白分解酵素の発色性基質、間接発色性基質あるいは蛍光基質を用い簡単にしかも特異性があり、さらに安価に家屋塵中のアレルゲン量を測定することにある。

蛋白分解酵素の基質としては例えばt-ブトキシカルボニル-L-フェニルアラニル-セリル-L-アルギニン-4-メチル-クマリル-7-アミド(以下Boc-phe-ser-arg-MCA), t-ブトキシカルボニル-L-バリル-L-ロイシル-1-リジン-4-メチル-クマリル-7-アミド, (以下Boc-val-leu-lys-MCA), N-ベンゾイル-DL-アルギニン-ナフチルアミド・HCl, N-ベンゾイル-DL-アルギニン-p-ニトロアニリド・HCl, トシル-リジン-ナフチルエステル, N-p-トシル-L-アルギニン-メチルエステル・HCl等が用いられるがその他の蛋白分解酵素に対する基質でもよい。

(発明の効果)

本発明の方法は家屋内塵中のアレルゲンの量を簡単にかつ迅速に測定することができるので、家屋内の汚染状況を的確に把握し、環境改善の目安として非常に有用である。

以下実施例により本発明の方法を具体的に説明する。

実施例1

室内塵1gを20mlのリン酸緩衝液で抽出し、Tris-HCl緩衝液中N-ベンゾイル-DL-アルギニン-p-ニトロアニリド・HClと室温で1夜反応させた後、肉眼的及び吸光度を測定した。

表 2

室内塵No	蛋白分解酵素活性 (O.D450nm)	肉眼的観察
1	0.30	淡黄色
2	0.11	微黄色
3	0.41	淡黄色
4	0.60	黄色
5	0.62	黄色

実施例3

トシル-リジン-ナフチル エステルを用いた室内塵中のアレルゲン活性の測定。室内塵1gを20mlのリン酸緩衝液で抽出し、その0.05mlとトシル-リジン-ナフチル エステル0.1mlを37°C 30分間反応させた後ファストレッド-ITR塩0.1mlを加えさらに37°C 10分間反応させ発色した色素量を肉眼的または吸光度を測定した。

Boc-phe-ser-arg-MCAを用いた室内塵中のアレルゲン活性の測定。

室内塵1gを20mlのリン酸緩衝液で抽出し、Boc-phe-ser-arg-MCAと37°C 30分間反応させ、生じた蛍光強度を励起波長380nm 測定波長460nmで蛋白分解酵素活性を測定した。

表 1

室内塵No	蛋白分解酵素活性 (nmol/ml/min)
1	0.30
2	0.11
3	0.41
4	0.60
5	0.62
6	1.75
7	0.78

実施例2

N-ベンゾイル-DL-アルギニン-p-ニトロアニリド・HClを用いた室内塵中のアレルゲン活性の測定。

表 3

室内塵No	蛋白分解酵素活性 (O.D475nm)	肉眼的観察
1	1.918	濃紅色
2	0.259	微紅色
3	0.360	淡紅色
4	0.522	紅色
5	0.471	紅色

実施例4

Boc-val-leu-lys-MCAを用いた室内塵中のアレルゲン活性の測定。

室内塵1gを20mlのリン酸緩衝液で抽出し、その0.1mlとBoc-val-leu-lys-MCA 0.8mlとを37°C 30分間反応させた後、励起波長380nm、測定波長460nmで測定した。

表 4

室内塵No	蛋白分解酵素活性 (mmol nmol / ml / min)
1	1.16
2	0.27
3	0.45
4	0.22
5	4.50